

# ヒト気道粘膜下腺における secretory leukocyte protease inhibitor 分泌と遺伝子発現

著者	齊藤 弘樹
号	3229
発行年	2001
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/22206">http://hdl.handle.net/10097/22206</a>

氏 名（本籍）                    さい                    とう                    ひろ                    き  
   齊                    藤                    弘                    樹

学 位 の 種 類                    博                    士                    （ 医                    学 ）

学 位 記 番 号                    医                    第                    3 2 2 9                    号

学位授与年月日                    平 成 13 年 3 月 7 日

学位授与の条件                    学位規則第 4 条第 2 項該当

最 終 学 歴                    平 成 4 年 3 月 24 日  
   弘前大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目                    Secretion and gene expression of secretory  
   leukocyte protease inhibitor by human airway  
   submucosal glands  
   （ヒト気道粘膜下腺における secretory leuko-  
   cyte protease inhibitor 分泌と遺伝子発現）

（主 査）

論 文 審 査 委 員                    教授 白 土 邦 男                    教授 佐々木 英 忠

教授 丸 山 芳 夫

# 論文内容要旨

## 研究目的

ヒト気道粘膜下腺における secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) 分泌および遺伝子発現について検討した。

## 研究方法

死後4時間以内の剖検肺の気道から粘膜下腺を単離して培養し、SLPIの分泌反応は、培養液中に分泌されるSLPIをELISA法にて測定し、SLPI mRNAの転写については、RT-PCR法およびSLPI特異的プローブを用いたSouthern blot法による半定量的検索を行った。

## 研究結果

低濃度の human neutrophil elastase (HNE) ( $10^{-11}$ ~ $10^{-9}$  M) は、SLPI分泌を増加させた。高濃度の HNE ( $10^{-8}$ ~ $10^{-7}$  M) では対照より低値を示したが、分泌されたSLPIは高濃度のHNEにより破壊されたと考えられた。メサコリンは、濃度依存性にSLPI分泌を増加、また、アトロピン、ピレンゼピン、4-DAMPにより抑制された。SLPI mRNA転写は、気道粘膜下腺では気道上皮の約30倍だった。HNE、メサコリン、デキサメサゾン刺激によりSLPI mRNA転写は増加したが、デキサメサゾンでは分泌の増加は認められなかった。

## 結論

- 1) ヒト気道粘膜下腺におけるSLPI mRNAの転写は、気道上皮の約30倍だった。
- 2) SLPI mRNAの転写およびSLPI分泌はHNE、ムスカリンレセプターにより調節を受けている。
- 3) ヒト気道粘膜下腺から分泌されたSLPIは過剰なHNEにより破壊されている可能性がある。

## 研究の意義・独創的な点

慢性気管支炎、気管支拡張症、嚢胞性線維症などの疾患では、気道に集積した好中球からelastaseをはじめとするproteaseが放出されている。SLPIはneutrophil elastaseに拮抗するantiproteaseであり、放出された過剰なproteaseによる気道や肺組織の傷害に対し、生体防御的な働きをしている。本研究において、気道におけるSLPIの分泌、SLPI mRNAの転写は、そのほとんどが粘膜下腺由来であると考えられ、単離したヒト気道粘膜下腺を培養し、SLPI分泌

および遺伝子発現について検討することは、今後の疾患の治療法を考える上で重要であると考えられる。

## 審 査 結 果 の 要 旨

慢性気管支炎や気管支拡張症、嚢胞性線維症などの気道炎症においては、活性化された好中球が気道粘膜に集積しており、好中球から放出される neutrophil elastase は気道分泌を促進する一方、過剰に存在する場合気道炎症を助長し気道粘膜組織に障害を与えることが知られている。Neutrophil elastase に拮抗する secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) は、ヒト気道粘膜下腺、気道上皮に存在するが、粘膜下腺からの SLPI 分泌、特に SLPI mRNA 転写の調節についてはいまだ明らかにされていない。以上のような研究背景のもとに、筆者はヒト気道粘膜下腺における SLPI 分泌およびその遺伝子発現の詳細を解明すべく本研究を行っている。

死後4時間以内のヒト剖検肺の気道から粘膜下腺を単離した後に培養し、粘膜下腺から培養液中に分泌された SLPI を ELISA 法にて測定し、更に SLPI mRNA の転写については RT-PCR 法および SLPI 特異的 probe を用いた Southern blot 法によって半定量的に検索を行っている。

低濃度の human neutrophil elastase (HNE) ( $10^{-11} \sim 10^{-9}$  M) は SLPI の分泌を増加させた。一方、高濃度の HNE ( $10^{-8} \sim 10^{-7}$  M) では SLPI は対照より低値を示した。しかし、HNE 刺激による SLPI mRNA 転写は濃度依存性に増加した。このことから HNE によって分泌された SLPI は高濃度の HNE の存在下では破壊されると推測している。Methacholine は濃度依存性に SLPI の分泌を増加し、一方 atropine, pirenzepine, 4-DAMP は抑制した。SLPI mRNA の転写は気道粘膜下腺では気道上皮の約30倍と高値であった。Methacholine, dexamethasone 刺激により SLPI mRNA の転写は増加したが、dexamethasone では分泌の増加は認められなかった。

以上のように本研究では、気道における SLPI mRNA の転写および SLPI の分泌のほとんどが粘膜下腺由来であること、そして SLPI の分泌が HNE, muscarinic receptor ( $M_1$ ,  $M_3$ ) により調節を受けていることを明らかにしている。また、粘膜下腺から分泌された SLPI は過剰な HNE により破壊されている可能性を示唆している。

疾患肺において、SLPI は放出された過剰な neutrophil elastase による気道や肺組織の傷害に対して生体防御的な働きをしており、気道における SLPI の分泌、SLPI mRNA の転写の調節機序の解明は、これらの疾患の病態の解明、治療法の開発に重要な情報を提供する。殊にヒト単離気道粘膜下腺を用いた本研究は、今後の疾患肺の治療法の発展に大いに寄与するものと考えられる。よって本研究は学位論文に値すると考える。